

①日本国特許庁(JP)

①特許出願公開

②公開特許公報(A)

昭54—145283

⑤Int. Cl.<sup>2</sup>  
C 12 D 13/00

識別記号 ⑥日本分類  
1 0 8 36(2) D 231

③公開 昭和54年(1979)11月13日  
庁内整理番号 6760—4B

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 3 頁)

④2, 5-ジケトグルコン酸の製造方法

①特 願 昭53—142150

②出 願 昭53(1978)11月17日

優先権主張 ③1977年11月18日③米国(US)  
④852950

⑦発 明 者 ドナルド・アルバート・キタ  
アメリカ合衆国コネチカット州  
エセックス・メドウウツズ・ロ  
ード(番地なし)

同 カーリーン・エリザベス・ホー

ル

アメリカ合衆国コネチカット州  
ニュー・ロンドン・グラナイト  
・ストリート17

①出 願 人 ファイザー・インコーポレーテ  
ッド

アメリカ合衆国ニューヨーク州  
ニューヨーク市イースト・フォ  
ーティセカンド・ストリート23  
5

④代 理 人 弁理士 湯浅恭三 外2名

明 細 書

1. [発明の名称]

2, 5-ジケトグルコン酸の製造方法

2. [特許請求の範囲]

1. グルコンobacter Cerinus をグルコース培地中で好氣的に培養し、次いで得られた2, 5-ジケトグルコン酸を回収するか、或は醗酵プロセスを選択的に還元して2-ケトグルコン酸及び2-ケトグルコン酸を生産するように化学処理することからなる、2, 5-ジケトグルコン酸を生産する方法。

2. 培地中のグルコース濃度が2.5ないし20%、醗酵温度が20から35℃、初期pHが3.5から7.5で、醗酵期間中のpHを約5.5に保つ特許請求の範囲第1項に記載の方法。

3. 当該グルコンobacter CerinusがIFO 3263株である特許請求の範囲第1項又は2項に記載の方法。

4. 当該グルコンobacter CerinusがIFO 3266株である

特許請求の範囲第1項又は2項に記載の方法。

5. 実質的に実施例1又は2に記載されている特許請求の範囲第1項に記載の方法。

6. 特許請求の範囲第1項ないし5項のうちのいずれかの方法によつて製造した2, 5-ジケトグルコン酸、2-ケトグルコン酸又は2-ケトグルコン酸。

3. [発明の詳細な説明]

本発明は2, 5-ジケトグルコン酸の製造に関するものである。

2, 5-ジケトグルコン酸はビタミンC合成の有用な中間体である。これまで2, 5-ジケトグルコン酸はアセトobacter メラノゲナム (Acetobacter Melanogenum)、アセトobacter アウランタム (Acetobacter Aurantium)、グルコンobacter ルビギノサス (Gluconobacter Rubiginosus)、グルコンobacter クエファシエンシス (Gluconobacter liquefaciens)及びピシユードモナス セサミ (Pseudomonas Sesami)のような種々異なる種の細菌

によつて生産されてきた。しかしこれらの微生物を使用すると、培養の副産物として多量の褐色ないし黄褐色の色素が生産され、それによつて一緒に生産される2,5-ジケトグルコン酸の純度が低下するためにこれらの微生物の使用は工業的見地からは完全に望ましいものではない。

米国特許3,790,444はアセトバクター フラガム (*Acetobacter Fragam*) と命名した新種による褐色の色素を伴わない2,5-ジケトグルコン酸の生産を主観している。

本発明は容易に入手し得る公的に保存されているグルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) を用いた2,5-ジケトグルコン酸の調製の為の経済的方法に関するものである。これらの株のうちの2つ、IFO 3263及び3266は2,5-ジケトグルコン酸を95%以上の収量で(グルコースに基づく)生産する。

2,5-ジケトグルコン酸はアスコルビン酸製造の中間体として有用である。2,5-ジケトグルコン酸の水溶液はアスコルビン酸及びエリソルビン

酸に転換することのできる2-ケトグルコン酸及び2-ケトグルコン酸の混合物へと選択的に還元される。

2,5-ジケトグルコン酸は、本発明によればグルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) の容易に入手し得る株を用いて、グルコースに対するその細菌作用により容易に調製することができる。グルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) の記載された公的に保存されているすべての株を試験したが、その結果これらすべてはケト酸を50-95%の収率で(グルコースに基づく)生産するということが示された。グルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) IFO 3263又は3266を採用した場合、生産されるケト酸は完全に所望する2,5-ジケトグルコン酸でありその収率は95%以上(グルコースに基づく)である。入手し得る公的に保存されているグルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) の株は次の通りである。

IFO 3262 (ATCC 12303)  
3263  
3264  
3265  
3266  
3267  
3268  
3269  
3270

グルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) のこれらの株は主炭素源がグルコースである培地中で培養する。これらの微生物はペプトン又は肉エキス等の高価な有機窒素源を要求しない。尿素又は硫酸アンモニウム、硝酸アンモニウム又はリン酸アンモニウム等の無機窒素源を使用する場合、必須生育因子としてニコチン酸を添加する。

培地中のグルコース濃度は2,5-ジケトグルコン酸を最も経済的に得る為には2.5-20%の間の値、好ましくは10-12%の間の値が良い。

発酵温度は20-35℃の間、好ましくは25-30℃の間、最も好ましくは約28℃が良い。培養培地の初期pHは3.5から7.5、好ましくは5ないし6の範囲にわたる。発酵期間中pHは水酸化ナトリウム溶液を添加することにより約5.5に維持する。pH調節の為には炭酸カルシウムを用いることが可能であり、調製した培地にオートクレーブをかけた後でグルコース110gあたり30gの量を加える。

接種後、発酵培地を機械的攪拌機で約1700回転/分の割合で攪拌し、毎分ブラスの0.5ないし1等容の空気を通気する。

グルコンノバクター セリヌス (*Gluconobacter Gerinus*) IFO 3263又は3266を採用し、2,5-ジケトグルコン酸の収率が最低90%(グルコースに基づく)になるまで(36-40時間)発酵を行う。

グルコースから2,5-ジケトグルコン酸への変換は以下の経路を通ることがペーパークロマトグラフィックによつて決定された。

グルコース→2-ケトグルコン酸→2,5-ジケトグルコン酸、

グルコース→5-ケトグルコン酸→2,5-ジケトグルコン酸、

メチルエチルケトン：アセトン：塩酸：水（80：6：2：12）の溶媒系を用いワットマン No. 1 及び No. 4 のペーパーを使用した。酸のスポットは1%の硝酸を含有する0.2%の0-フェニレンジアミンのエタノール溶液をスプレーし、約70℃に加熱することによりその位置を決定した（5-ケトグルコン酸-青；2-ケトグルコン酸-黄；2,5-ジケトグルコン酸-緑）。高圧液体クロマトグラフィーを同定用に使用することも可能である。

2,5-ジケトグルコン酸は最終醗酵プロセスから当業界周知の便宜的な方法のいずれかによつて分離、回収することが可能である。戸過した醗酵プロセスは、そのまま水酸化水素で処理し、得られた2-ケトグルコン酸及び2-ケトグルコン酸の混合物を加水分解してアスコルビン酸及びエリソル

ビン酸を生産するように化学加工処理することもできる。

#### 実施例 1

以下の液体醗酵培地を調製する：

成 分	g/l
グルコース	25
コーンステープリカー	5
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	0.5
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.2
$\text{CaCO}_3$	6.3

pH 6.2

1 l の培地を含有する瓶とフラスコを121℃で30分間オートクレーブかける。冷却した培地の pH は 5.0 である。栄養寒天斜面からの グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3263 の細胞 (20 ml の醗酵培養液の 5 ml) をこのフラスコに加え、次いでこのフラスコをロータリーシェーカー上約 28℃、約 24 時間振とうする。

以下の生産培地 2 l を含有する 4 l の攪拌醗酵槽に、5% (容量/容量) の接種量となるだけの十分な量の培養物を加える。

成 分	g/l
グルコース	110
コーンステープリカー	0.5
$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0.58
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5
尿素	0.5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1 mg
ニコチン酸	300 r

pH 6.0

約 28℃ の温度、1700 回転/分の攪拌、毎分プロセスの 0.75 等容の通気により醗酵を行う。約 20 時間の醗酵期間の後、滅菌したグルコースを加える (55 g/l)。水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を 5.5 に維持する。2,5-ジケトグルコン酸の収率が 95% 以上 (グルコースに基づく) になるまで醗酵を続ける。

#### 実施例 2

グルコノバクター セリヌス (Gluconobacter Cerinus) IFO 3266 を用いて実施例 1 の方法を繰り返し匹敵し得る結果を得る。

特許出願人 ファイザー・インコーポレーテッド

代理人 弁理士 湯 浅 恭 三

(外 2 名)

# BEST AVAILABLE COPY

? S PN=JP 54145283

S3

1 PN=JP 54145283

? T S3/7

3/7/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI

(c) 2006 Thomson Derwent. All rts. reserv.

002239791

WPI Acc No: 1979-38984B/197921

2,5-Diketo-gluconic acid preparation - by aerobic culture of acetobacter cerinus in glucose medium and opt. reduction to 2-keto-gulonic and 2-keto-gluconic acids

Patent Assignee: PFIZER INC (PFIZ )

Number of Countries: 020 Number of Patents: 023

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
BE 872095	A	19790517				197921 B
DE 2849393	A	19790523				197922
GB 2008116	A	19790531				197922
NL 7811353	A	19790522				197923
DK 7805129	A	19790611				197927
NO 7803877	A	19790611				197927
SE 7809345	A	19790618				197927
PT 68789	A	19790717				197931
BR 7807524	A	19790724				197932
FI 7802871	A	19790731				197935
FR 2409304	A	19790720				197935
ZA 7806487	A	19790918				197946
JP 54145283	A	19791113				197951
HU 17724	T	19800228				198011
DD 140459	A	19800305				198025
AT 7808231	A	19810215				198111
RO 75389	A	19801130				198125
GB 2008116	B	19820317				198211
JP 82009357	B	19820220				198211
CA 1119981	A	19820316				198215
DE 2849393	C	19830505				198319
CH 643592	A	19840615				198430
IT 1101715	B	19851007				198707

Priority Applications (No Type Date): US 77852950 A 19771118

Abstract (Basic): BE 872095 A

Prodn. of 2,5-diketogluconic acid (I) by aerobic culture of Acetobacter cerinus in a glucose contg. medium followed by recovery of (I) or selective reduction of the fermentation broth to yield 2-ketogulonic acid (II) and 2-ketogluconic acid (III).

(I) is reduced selectively to give a mixt. of (II) and (III) which may be converted to a ascorbic and erythorbic acids.

Present bacteria used to produce (I) produce large quantities of brown or brown-yellow pigments as by-products which lower the purity of products. US 3790444 uses Acetobacter fragum to avoid pigment production. The present process uses acetobacter cerinus which gives (I) in high yield without pigments.

Derwent Class: B05; D16; E17

International Patent Class (Additional): A61K-000/00; C07C-059/17;

C07H-003/02; C07H-007/02; C12D-001/02; C12P-007/60; C12R-001/01;

C12R-001/02